

تأثیر سیتالوپرام و ویتامین E بر نورون‌های هرمی هیپوکامپ در موش رت افسرده

لیلا صالحی^{۱*}، فرح فرخی^۲، حبیب حسینی^۳

چکیده

زمینه و هدف: افسردگی یکی از شایع‌ترین اختلالات روانی است که درمان مؤثر آن موجب حفظ عملکرد بیمار در سطح قابل‌قبولی می‌گردد. ویتامین E به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان از سلول‌های بدن در مقابل تخریب محافظت می‌کند. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر ویتامین E و سیتالوپرام بر نورون‌های ناحیه هیپوکامپ در موش‌های افسرده ماده انجام شد.

روش بررسی: در مطالعه حاضر ۳۰ رأس موش رت ماده با وزن متوسط 200 ± 20 g به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: ۱- گروه C (کنترل غیرافسرده)؛ ۲- گروه D (کنترل افسرده که با آب و غذای معمولی تیمار شدند)؛ ۳- گروه DS (دریافت‌کننده سیتالوپرام با دوز 30 mg/kg/bw)؛ ۴- گروه DE (تیمار شده با ویتامین E با دوز 100 mg/kg/bw)؛ ۵- گروه DES (گروهی که ویتامین E و سیتالوپرام را توأمأ دریافت کردند). یک‌ماه پس از تیمار، حیوانات به روش آسان‌کشی، کشته شدند، سپس مغز و ناحیه هیپوکامپ جدا و پس از تثبیت در فرمالین، مقاطع بافتی تهیه گردید. پس از رنگ‌آمیزی با همتاکسیلین و انوزین با میکروسکوپ نوری ساختمان بافتی هیپوکامپ مورد مطالعه قرار گرفت. جهت القای افسردگی، موش‌ها به مدت ۲ ماه در تاریکی مطلق قرار داده شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی صورت گرفت. سطح معنی‌داری، ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: حدود ۴۰ و ۵۰٪ نورون‌های ناحیه CA_1 و DG در موش‌های افسرده دچار نکروز نورونی شدند، درحالی‌که در موش‌های تیمار شده با سیتالوپرام و ویتامین E، میزان نکروز نورونی به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد سیتالوپرام و ویتامین E علیه آسیب نورونی ناحیه هیپوکامپ در حیوانات افسرده، اثر حفاظتی دارند.

کلید واژه‌ها: رت؛ سیتالوپرام؛ ویتامین E؛ افسردگی؛ نورون‌های هیپوکامپ.

^۱کارشناس ارشد زیست‌شناسی، گرایش بافت‌شناسی و جنین‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۲استادیار زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۳کارشناس ارشد زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

لیلا صالحی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

l.1365@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۲۷

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۶

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Salehi L, Farrokhi F, Hosseini H. Effect of citalopram and Vitamin E on pyramidal neurons of the hippocampus in depressed rats. Qom Univ Med Sci J 2013;7(6):14-20. [Full Text in Persian]

مقدمه

افسردگی یک اختلال عودکننده یا مزمن خلق و خوی است، که عملکرد اجتماعی و اقتصادی حدود ۱۲۱ میلیون نفر را در سراسر جهان تحت تأثیر خود قرار داده است. این اختلال روحی رایج شامل مجموعه‌ای متنوع و متغیر از نشانه‌هایی همچون خلق و خوی افسرده، از دست دادن علاقه یا لذت، احساس گناه یا کاهش اعتماد به نفس، اختلال خواب یا اشتها، کاهش انرژی و کاهش تمرکز می‌باشد (۱). افسردگی به‌صورت یک اختلال ناهمگون، اغلب با نشانه‌هایی در سطوح رفتاری و فیزیولوژی آشکار می‌گردد (۲).

هیپوکامپ یکی از مناطق مغز است، که در حافظه و یادگیری تصویری، شفاهی، متنی و فضایی درگیر بوده و در دوره افسردگی دچار اختلال می‌شود. همچنین هیپوکامپ نقش مهمی در پردازش احساسات به واسطه اتصالات عصبی به مناطق مختلف مغز از جمله به تالاموس، قشر پیشین مغز، آمیگدال و بازال گانگلیا دارد (۳،۴). روش‌های دارویی برای درمان افسردگی شامل به‌کارگیری طولانی‌مدت آنتی‌دپرسانت‌ها، هم در شکل مونوتراپی و هم به‌صورت ترکیب چند آنتی‌دپرسانت با مکانیسم‌های عمل متفاوت است (۵). گروه‌های دارویی زیادی برای درمان افسردگی به کار می‌رود. یکی از این گروه‌ها، داروهای مهارکننده بازجذب سروتونین (SSRIs) می‌باشد. سروتونین در سبب‌شناسی و درمان انواع اختلال‌های اعصاب و روان مانند افسردگی و اضطراب درگیر است. این گروه داروها، رهاسازی 5-HT را توسط مهار بازجذب آن افزایش می‌دهند. سیتالوپرام از گروه SSRI ها بوده که دارای ساختار شیمیایی غیرمرتبط با دیگر SSRI ها می‌باشد. استفاده از سیتالوپرام برای درمان افسردگی و اضطراب اجتماعی مورد تأیید قرار گرفته است. همچنین دوز تحمل سیتالوپرام در انسان حدود ۲۰-۴۰ mg بوده، که می‌تواند باعث بروز کاهش رفتار و رغبت جنسی گردد (۶،۷). باید به این نکته توجه نمود که افسردگی عمدتاً با نقص دفاع آنتی‌اکسیدانی همراه است (۸). ویتامین E درون سلول‌های بدن نیز که به‌طور طبیعی ساخته می‌شود می‌تواند نقش یک آنتی‌اکسیدان را ایفا کرده و از سلول‌های بدن در مقابل تخریب محافظت کند؛ زیرا این ویتامین توانایی زیادی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد دارد.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی ویتامین E، از آسیب داخل رگ‌ها و سکنه قلبی پیشگیری می‌کند (۹،۶). همچنین این ویتامین باعث افزایش سطح ایمنی بدن در مقابل بیماری‌ها و کندشدن روند پیری سلول‌ها می‌شود. بنابراین، کمبود آن می‌تواند باعث افزایش احتمال ابتلا به اختلالات تولیدمثلی گردد (۱۰-۱۲). با توجه به اینکه تأثیرات داروی سیتالوپرام بر بافت‌های مختلف جنس نر و به‌خصوص سیستم تولیدمثلی در این جنس و درمان زود انزالی تحت تأثیر آن، در پژوهش‌های متعددی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۳،۱۴)؛ مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیرات ویتامین E و سیتالوپرام به‌صورت توأم و جداگانه در بهبود نوروپاتی های هرمی آسیب‌دیده حاصل از افسردگی القا شده توسط تاریکی مطلق صورت گرفت.

روش بررسی

در این تحقیق ۳۰ رأس موش رت ماده با وزن متوسط 20.0 ± 2.0 g از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. حیوانات پس از یک هفته سازگاری در حیوانخانه دانشکده علوم دانشگاه ارومیه، با شرایط آزمایشگاهی استاندارد (درجه حرارت کنترل شده $20 \pm 5^\circ\text{C}$ ، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی $40\%-60\%$)، به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: ۱- گروه C، کنترل سالم (غیرافسوده)؛ ۲- گروه D (موش‌های افسرده، که این دو گروه در دوره تیمار آب و غذای معمولی دریافت کردند)؛ ۳- گروه DS (موش‌های افسرده دریافت‌کننده سیتالوپرام با دوز 30 mg/kg/bw)؛ ۴- گروه ES (موش‌های افسرده، که با ویتامین E با دوز 100 mg/kg/bw تیمار شدند)؛ ۵- گروه DES (موش‌های افسرده، که با ویتامین E و سیتالوپرام توأم تیمار شدند).

چهار گروه از موش‌ها به مدت ۲ ماه در تاریکی مطلق قرار گرفتند. (استفاده از تاریکی مطلق یکی از روش‌های القاکننده افسردگی است) (۱۳). پس از سپری شدن این دوره، جهت مشخص شدن میزان افسردگی، از آنها تست شنا گرفته شد. سپس به‌طور انفرادی به سیلندر پیرکسی (20×40) که با آب $22-25^\circ\text{C}$ و تا عمق ۳۰ cm پر شده بود، منتقل شدند. کل زمان آزمایش شای اجباری ۶ دقیقه در نظر گرفته شد.

آزمون‌های آماری واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری، ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میزان نورون‌های نکروزه در ناحیه DG در گروه شاهد سالم ۱۰٪، شاهد افسرده ۵۰٪، تیمار شده با سیتالوپرام ۱۵٪، تیمار شده با ویتامین E، ۱۲٪ و در گروه آخر ۴۰٪ بود. در ناحیه CA₁ در گروه‌های تیمار شده با سیتالوپرام و ویتامین E به ترتیب ۳ و ۵٪ سلول‌ها نکروزه شدند، در حالی که این میزان در گروه‌های شاهد افسرده و گروه چهارم به ترتیب ۳۶ و ۲۰٪ بود. در ناحیه CA₃ در گروه‌های شاهد غیرافسرده و گروه دریافت کننده ویتامین E، سلول نکروزه‌ای مشاهده نشد. میانگین نورون‌های نکروزه در ناحیه DG، در موش‌های افسرده و گروه DES، به‌طور معنی‌دار بیش از سایر گروه‌ها بود، در حالی که در موش‌های تیمار شده با سیتالوپرام و ویتامین E میانگین تعداد نورون‌های نکروزه به میزان چشمگیری کاهش یافت. میانگین نورون‌های نکروزه در ناحیه DG، در موش‌های افسرده به‌طور معنی‌دار بیش از سایر گروه‌ها بود، در حالی که در گروه DES، در مقایسه با موش‌های افسرده، کاهش معنی‌داری داشت، ولی در مقایسه با موش‌های تیمار شده با سیتالوپرام و ویتامین E، میانگین تعداد نورون‌های نکروزه، به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. میانگین نورون‌های نکروزه در ناحیه CA₃، در موش‌های افسرده که با ویتامین E تیمار شده بودند، مشابه گروه کنترل بود، در حالی که در موش‌های افسرده تیمار شده با سیتالوپرام و گروه DES مشابه موش‌های افسرده بود و افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (p < ۰/۰۵) (جدول).

در ۲ دقیقه نخست (زمان در نظر گرفته شده برای تطابق حیوان با شرایط موجود) زمان بی‌حرکتی ثبت گردید و زمان بی‌حرکتی برای ۴ دقیقه بعدی اندازه‌گیری شد. بی‌حرکتی زمانی قلمداد می‌شد که هیچ فعالیت اضافی مشاهده نشود. (افزایش زمان بی‌حرکتی علامتی بسیار مهم در بیان افسردگی و کاهش آن به معنای اثربخشی درمان ضدافسردگی در نظر گرفته می‌شود). پس از اطمینان از افسردگی موش‌ها، تیمار آنها به مدت ۴ هفته ادامه یافت.

طول مدت تیمار ۲۸ روز بود و سیتالوپرام به‌صورت خوراکی و ویتامین E به‌صورت داخل عضلانی تزریق گردید. پس از اتمام دوره تیمار، جهت مطالعات بافت‌شناسی، موش‌ها با کلروفرم بیهوش شده و پس از آسان‌کشی مغز آنها از جمجمه خارج و در محلول ثبوت (فرمالین ۱۰٪) قرار داده شد. قابل ذکر است که برای تعیین فاز جنسی موش‌ها، از تمامی آنها اسمیر واژینال تهیه گردید و در روزهای مختلف براساس قرارگیری در فاز استروس، آسان‌کشی شدند.

بعد از تثبیت نمونه‌ها، مراحل تهیه بافتی؛ یعنی آب‌گیری، شفاف‌سازی و آغشتگی با پارافین انجام شد. سپس مقاطع بافتی به ضخامت ۶μm تهیه گردید و بعد از رنگ‌آمیزی با (H&E) نورون‌های نواحی مختلف هیپوکامپ با میکروسکوپ نوری و با عدسی چشمی مشبک در واحد سطح (mm²) شمارش شدند. نورون‌های هرمی سالم و آسیب‌دیده در مناطق DG (Dentate Gyrus)، CA₁ و CA₃ پس از شمارش آنالیز شدند جامعه آماری دارای توزیع نرمال بود و موش‌ها به‌صورت کاملاً تصادفی در گروه‌های مختلف قرار گرفتند. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از

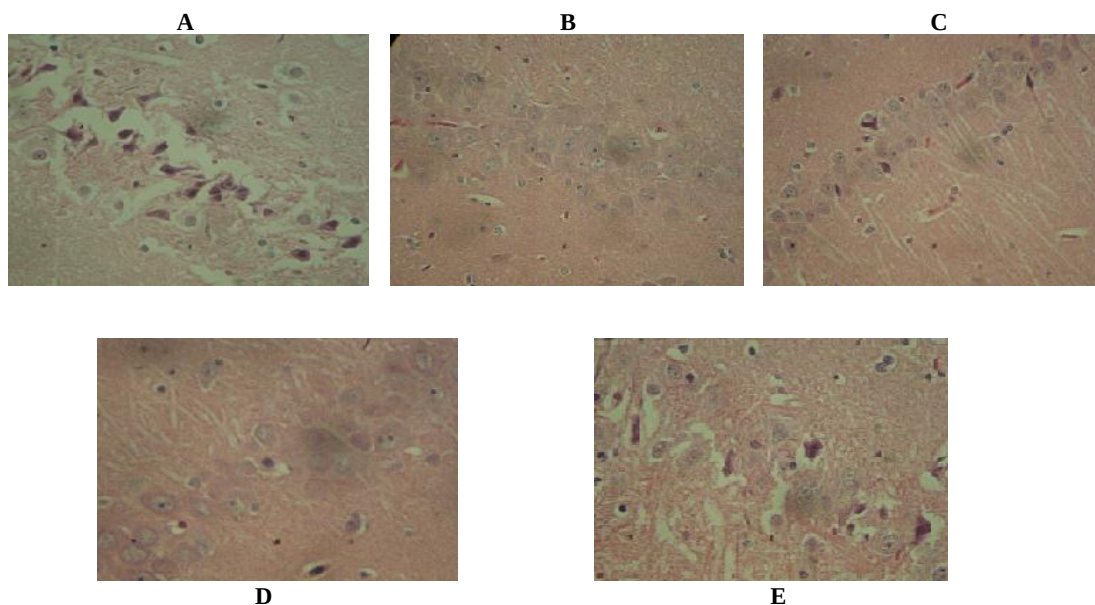
جدول: میانگین و انحراف معیار تعداد نورون‌های نکروزه در واحد سطح در نواحی DG، CA₁، CA₃ در گروه‌های مختلف حیوانات

گروه	کنترل سالم	کنترل افسرده	افسرده + سیتالوپرام	افسرده + ویتامین E	افسرده + ویتامین E همراه سیتالوپرام
ناحیه DG	^a ۱/۸۲±۱۲/۰۰	^b ۱/۷۵±۵۱/۰۰	^a ۱/۱۵±۱۴/۵۰	^a ۱/۲۹±۱۲/۵۰	^b ۰/۹۵±۴۲/۷۰
ناحیه CA ₁	^a ۱۵±۱/۲۰	^b ۱/۷۰±۳۵/۲	^a ۵۷±۲/۵۰	^a ۵۰±۴/۷۰	^c ۱/۱۴±۲۰/۴۰
ناحیه CA ₃	^a ۲۵±۶۱	^b ۸۰±۷/۰۰	^b ۶۵±۷/۰۰	^a ۴۱±۶۳	^b ۸۶±۷/۰۰

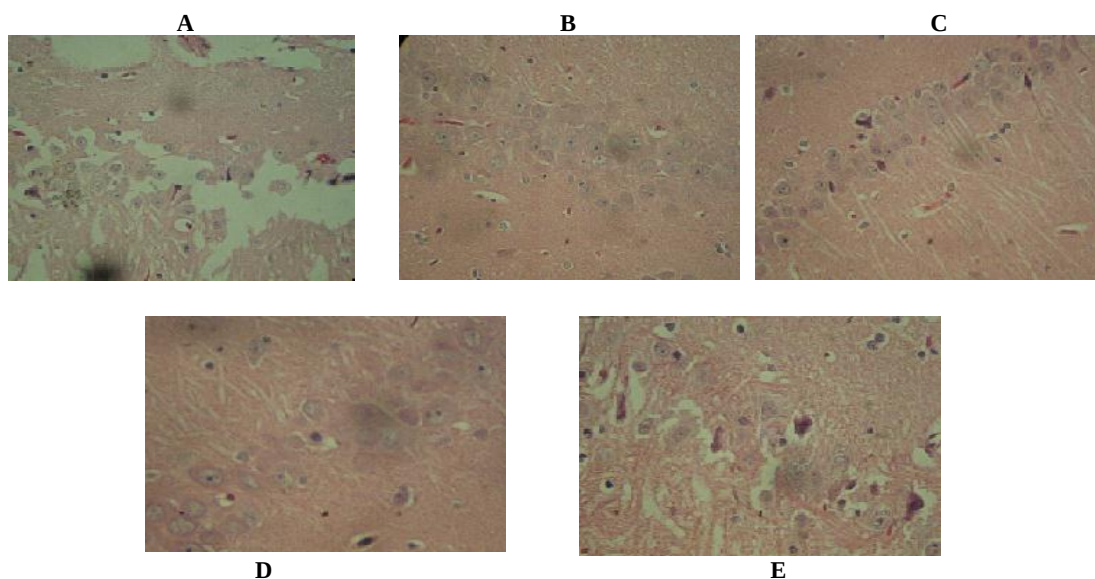
اعداد با حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح (p < ۰/۰۵) می‌باشند.

دریافت کردند نیز نورون‌ها تقریباً مشابه گروه کنترل بود و در بعضی نقاط، تقسیم سلولی (نوروژنز) مشاهده گردید (تصاویر C و D در شکل‌های ۱-۳). با این وجود، در گروه دریافت‌کننده دو دارو، هسته‌های متراکم و کوچک زیادی قابل مشاهده بود، گرچه نسبت به گروه شاهد افسرده، بهبود نسبی داشت (تصاویر E در شکل‌های ۱-۳)

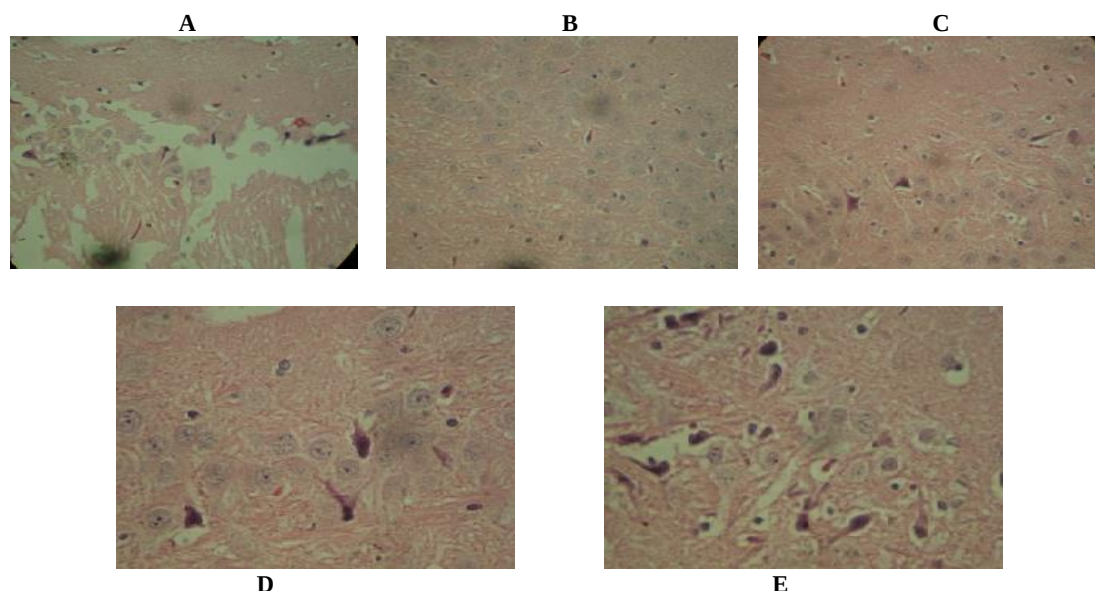
در بررسی هیستوپاتولوژیک هیپوکامپ در گروه کنترل، در هر سه ناحیه CA_1 ، CA_3 و DG نورون‌های هرمی با هسته‌های گرد، هستک‌های برجسته و سیتوپلاسم واضح قابل مشاهده بود (تصاویر A در شکل‌های ۱-۳). در گروه کنترل افسرده نیز هسته‌ها به صورت متراکم و کوچکتر (پیکنوزه) دیده شد (تصاویر B در شکل‌های ۱-۳). در گروه‌هایی که به ترتیب سیتالوپرام و ویتامین E



شکل شماره ۱: مقاطع عرضی ناحیه DG بافت هیپوکامپ در گروه‌های کنترل، کنترل افسرده، سیتالوپرام، ویتامین E و سیتالوپرام+ ویتامین E (به ترتیب تصاویر A، B، C، D، E). تغییرات قابل مشاهده شامل نورون‌های پیکنوزه، سیتوپلاسم واکوئل دار شده و نوروژنز می‌باشد (درشت‌نمایی $\times 400$ و رنگ آمیزی H&E)



شکل شماره ۲: مقاطع عرضی ناحیه CA_3 بافت هیپوکامپ در گروه‌های کنترل، کنترل افسرده، سیتالوپرام، ویتامین E و سیتالوپرام+ ویتامین E (به ترتیب تصاویر A، B، C، D، E). تغییرات قابل مشاهده شامل نورون‌های پیکنوزه، سیتوپلاسم واکوئل دار شده و نوروژنز می‌باشد (درشت‌نمایی $\times 400$ و رنگ آمیزی H&E)



شکل شماره ۳: مقاطع عرضی ناحیه CA₁ بافت هیپوکامپ در گروه‌های کنترل، کنترل افسرده، سیتالوپرام، ویتامین E و سیتالوپرام + ویتامین E (به ترتیب تصاویر A, B, C, D, E). تغییرات قابل مشاهده شامل نورون‌های پیکنوزه، سیتوپلاسم واکوئل دار شده و نورون‌ز می باشد (درشت‌نمایی $\times 400$ و رنگ آمیزی H&E)

بحث

افسردگی یک اختلال جدی در جامعه امروز است. تصور می‌شود این بیماری ناشی از تغییرات شیمیایی در مغز بوده، که به عنوان یک بیماری معمول در دوران بلوغ محسوب می‌گردد. افسردگی علت مهم ناخوشی و مرگ در سرتاسر جهان، همچنین تحمیل‌کننده محدوده وسیعی از هزینه‌ها بر افراد و خانواده‌های آنها می‌باشد. سروتونین در اتیولوژی و درمان اختلالات روانی درگیر است. نواحی درگیر در افسردگی شامل آمیگدال، هیپوکامپ، استریاتوم، تالاموس و هسته دم‌دار است. قرار دادن موش‌ها در شرایط محروم از نور باعث افزایش زمان بی‌حرکی و افزایش سطح کورتیکواسترون در تست شنای اجباری شده، که این نتایج نشان می‌دهد محرومیت از نور، موجب بروز رفتارهای شبه‌افسردگی و از طرفی، کاهش توانایی در یادگیری می‌شود (۱۵). علاوه بر این، محرومیت از نور، رسیدگی و بلوغ دندریتیک نورون‌های تازه تولید شده در هیپوکامپ را مهار می‌کند. حذف نور، تکثیر سلولی در ناحیه زیربطنی (Sub Ventricular Zone) و هیپوکامپ را سرکوب کرده و تمایز نورونی سلول‌های تازه متولد شده در شیار Dentate را مهار می‌کند (۱۶). بدکاری و غیرطبیعی بودن غدد اندوکرین نیز در ارتباط با افسردگی است، که این نوع عملکرد شامل افزایش سطوح هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین (CRH) یا یک اختلال در مکانیسم فیدبک منفی

کورتیزول، تحریک آزادسازی گلوکوکورتیکوئیدها، از کورتکس آدرنال می‌باشد. این آزادسازی گلوکوکورتیکوئیدها به آسیب نورون‌های هیپوکامپ منجر می‌شود (۱). در این مطالعه مشاهده گردید با القای افسردگی در موش‌ها، زمان بی‌حرکی در تست شنای اجباری افزایش می‌یابد، که این نتایج با مطالعات قبلی همخوانی داشت.

سیتالوپرام، دارویی ویژه و انتخابی سروتونین است، که توسط بلوکه کردن بازجذب سروتونین عمل می‌کند. در گزارش‌ها آمده است که هیپوتالاموس و مغز میانی، ناحیه هدف مورد توجه این دارو می‌باشد. سیتالوپرام غلظت‌های سروتونین خارج سلولی را در هیپوکامپ پستی و شکمی، کورتکس پری فورنتال، هسته آکومبنس و استریاتوم افزایش می‌دهد. این گزارش‌ها با نتایج مطالعه حاضر که مؤید کارایی و اثرگذاری سیتالوپرام در بهبود نورون‌های آسیب‌دیده در نواحی مختلف هیپوکامپ بود، مطابقت داشت. با این وجود، سیتالوپرام نیز مانند بسیاری از آنتی‌دپرسانت‌ها دارای اثرات جانبی خطرناک است (۱۷، ۱۸). ویتامین E از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی بدن بوده، که به نظر می‌رسد استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل بین آنتی‌اکسیدان‌ها و پیش‌اکسیدان‌ها در داخل بدن، در افسردگی دخیل باشد (۱۹). نتایج تحقیقات نیز بیانگر این مطلب است که در بیماران همراه با افسردگی، به‌طور قابل توجهی

این نتایج با یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر در بهبود چشمگیر و معنی‌دار نورون‌های آسیب‌دیده رت‌های افسرده، که تحت تیمار ویتامین E قرار گرفته بودند، همخوانی داشت (۲۲). نکته قابل توجه در پژوهش حاضر، عدم هم‌افزایی اثر تجویز توأم ویتامین E و سیتالوپرام در بهبود نورون‌های آسیب‌دیده هیپوکامپ رت‌های افسرده بود، که با وجود مطالعه بسیاری از مقالات هیچ دلیل مبرهن و واضحی بر دست‌یافتن به چنین نتیجه‌ای حاصل نشد.

نتیجه‌گیری

آنتی‌دپرسانت‌ها می‌توانند نشانه‌های افسردگی را بهبود بخشند، اما آنها دارای اثرات جانبی زیادی هستند. بنابراین، جهت‌گیری به سمت معرفی داروهای مؤثر و در عین حال با عوارض جانبی کمتر، منطقی به نظر می‌رسد. ویتامین‌های گوناگون نظیر ویتامین E می‌تواند اثرات جانبی داروهای شیمیایی را کاهش داده و به‌طور کلی، در کاهش میزان نکروز نورون‌های هیپوکامپی ناشی از افسردگی دخیل باشد.

غلظت‌های سرم ویتامین E نسبت به گروه‌های شاهد طبیعی، کمتر است (۸). همچنین مشخص شده است فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز (G6PD) و گلوکاتایون S ترانسفراز (GST) بسته به کمبود ویتامین E کاهش می‌یابد که در نتیجه افسردگی تشدید می‌گردد، همچنین محتوای ویتامین E کبدی به‌طور قابل توجهی به‌وسیله تغذیه ناقص این ویتامین کاهش یافته و بدن را در برابر پراکسیداسیون لیپیدی و ایجاد افسردگی مستعد می‌سازد (۲۱،۲۰). تعدادی از مطالعات به بررسی حجم هیپوکامپ در افسردگی پرداخته‌اند، که تجزیه و تحلیل شکل هیپوکامپ در مطالعات اسکیزوفرنی، بیماری آلزایمر، همچنین در افراد مبتلا به افسردگی با موفقیت همراه بوده و در برخی از آنها نیز به کاهش قابل توجهی در اندازه هیپوکامپ اشاره شده است، در صورتی که برخی دیگر چنین گزارشی را ارائه نکرده‌اند (۴،۳). در تحقیقات نشان داده شده است هیپوکامپ و قشر پیشین مغز که تحت تأثیر گونه‌های فعال اکسیژن آسیب می‌بینند توسط مقادیر بالای ویتامین E بهبود می‌یابند.

References:

- Will S, Remon JP, Lambert W. Quantitative analysis of new generation antidepressants using gas chromatography-mass spectrometry applications in clinical and forensic toxicology. Belgium: Ghent University Faculty Pharmacology Sciences Pub; 2008. p. 1-19.
- Akhondzadeh SH, Maleki J. Herbal medicines in the treatment of psychiatric and neurological disorders. Iran J Psychiatry 2006;1:1-11.
- Videbech P, Ravnkilde B. Hippocampal volume and depression: A meta-analysis of MRI studies. Am J Psychiatry 2004 Nov; 161(11):1957-66.
- Zhao Z, Taylor WD, Styner M, Steffens DC, Krishnan KR, MacFall JR. Hippocampus shape analysis and late-life depression. PLoS One 2008 Mar 19;3(3):e1837.
- Bach-Rojecky L, Kalodjera Z, Samarzija I. The antidepressant activity of hypericum perforatum L. Measured by two experimental methods on mice. Acta Pharm 2004 Jun; 54(2):157-62.
- Kleijn J, Cremers TI, Hofland CM, Westerink BH. CB-1 receptors modulate the effect of the selective serotonin reuptake inhibitor, citalopram on extracellular serotonin levels in the rat prefrontal cortex. Neurosci Res 2011 Jul; 70(3):334-7.
- Kuepper Y, Bausch S, Iffland J, Reuter M, Hennig J. S-Citalopram in neuroendocrine challenge-tests: Serotonergic responsivity in healthy male and female human participants. Psychoneuroendocrinology 2006 Nov; 31(10):1200-7.
- Maes M, De Vos N, Pioli R, Demedts P, Wauters A, Neels H, et al. Lower serum Vitamin E concentrations in major depression. Another marker of lowered antioxidant defenses in that illness. J Affect Disord 2000 Jun; 58(3):241-6.

9. Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med* 2007;43(1):4-15.
10. Al-Attar AM. Antioxidant effect of Vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi J Biol Sci* 2011 Jan; 18(1):63-72.
11. Colombo ML. An update on Vitamin E, tocopherol and tocotrienol-perspectives. *Molecules* 2010 Mar 24;15(4): 2103-13.
12. Ben Amara I, Soudani N, Troudi A, Bouaziz H, Boudawara T, Zeghal N. Antioxidant effect of Vitamin E and selenium on hepatotoxicity induced by dimethoate in female adult rats. *Ecotoxicol Environ Saf* 2011 May; 74(4): 811-9.
13. Soga T, Wong DW, Clarke IJ, Parhar IS. Citalopram (antidepressant) administration causes sexual dysfunction in male mice through RF-amide related peptide in the dorsomedial hypothalamus. *Neuropharmacology* 2010;59(1-2):77-85.
14. Maciag D, Coppinger D, Paul IA. Evidence that the deficit in sexual behavior in adult rats neonatally exposed to citalopram is a consequence of 5-HT1 receptor stimulation during development. *Brain Res* 2006 Dec 13;1125(1): 171-5.
15. Gonzalez MM, Aston-Jones G. Light deprivation damages monoamine neurons and produces a depressive behavioral phenotype in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008 Mar 25;105(12):4898-903.
16. Spink F, Grieco E, Krips O, Loijens L, Noldus L, Zimmerman P. Proceedings of measuring behavior. 7th International conference on methods and techniques in behavioral research. The Netherlands: Eindhoven 2010 Aug, 24-27.
17. Weikop P, Yoshitake T, Kehr J. Differential effects of adjunctive methylphenidate and citalopram on extracellular levels of serotonin, noradrenaline and dopamine in the rat brain. *Eur Neuropsychopharmacol* 2007 Oct; 17(10):658-71.
18. Pollier F, Sarre S, Aguerre S, Ebinger G, Mormède P, Michotte Y, et al. Serotonin reuptake inhibition by citalopram in rat strains differing for their emotionality. *Neuropsychopharmacology* 2000 Jan; 22(1):64-76.
19. Owen AJ, Batterham MJ, Probst YC, Grenyer BF, Tapsell LC. Low plasma Vitamin E levels in major depression: Diet or disease? *Eur J Clin Nutr* 2005;59(2):304-6.
20. Ng HP, Wang YF, Lee CY, Hu ML. Toxicological and antioxidant effects of short-term dehydroepiandrosterone injection in young rats fed diets deficient or adequate in Vitamin E. *Food Chem Toxicol* 1999 May; 37(5):503-8.
21. Singh M, Sandhir R, Kiran R. Effects on antioxidant status of liver following atrazine exposure and its attenuation by Vitamin E. *Exp Toxicol Pathol* 2011 Mar; 63(3):269-76.
22. Navarro A, Bandez MJ, Lopez-Cepero JM, Gómez C, Boveris A. High doses of Vitamin E improve mitochondrial dysfunction in rat hippocampus and frontal cortex upon aging. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011 Apr; 300(4):R827-34.